Aus der Poliklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
der Universität Göttingen
Direktor Professor Dr. W. Krantz

Untersuchungen zur Ermittlung der besten Methode des nativen Pilznachweises bei Fadenpilzerkrankungen

---

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der
medizinischen Doktorwürde

an der

Georg-August-Universität
zu Göttingen

---

von

Konrad Schulz

Hildesheim 1938
Buchdruckerei August Lax

Dissertation der Medizinischen Fakultät Göttingen
vorgelegt am 1. November 1937

Referent: Oberarzt Dr. Marquardt

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dez. 1937

Ich danke an dieser Stelle Herrn Professor Dr. Krantz für die Überlassung des Themas und Herrn Oberarzt Dr. habil. Marquardt für die liebenswürdige Übernahme des Referates.

Unter den Verfahren, die zum Nachweis der Trichophytiepilze bekannt sind, nimmt das native Präparat die erste Stelle ein. Das native Präparat zeigt unter dem Mikroskop in ungefärbtem Zustand die Pilze in der von ihnen durchwucherten Hornsubstanz. Das Prinzip des Nativpräparates ist die Möglichkeit, die stark lichtbrechenden Pilzelemente, Mycelien und Sporen, von der umgebenden, weniger lichtbrechenden Hornsubstanz, Schuppen, Haaren und Nägeln, unter dem Mikroskop bei geringer Lichtzufuhr unterscheiden zu können. Voraussetzung dazu ist, daß die zu untersuchende Substanz durchsichtig genug ist, um die Pilzelemente durchscheinen zu lassen. Da in den meisten Fällen diese Voraussetzung nicht von vornherein erfüllt ist, ist es nötig, das Material auf geeignete Weise für die Untersuchung herzurichten. Dieses Herrichten geschieht auf verschiedene Weise mittels verschiedener Methoden. Unter diesen verschiedenen Methoden die beste herauszufinden, war meine Aufgabe.

Alle nativen Methoden zum Pilznachweis haben trotz mancher Verschiedenheiten der Ausführung doch das Wesentliche des Untersuchungsganges gemeinsam.

Das Gemeinsame ist folgendes:

Die zu untersuchende Hornsubstanz — also Epidermisschuppen, Haare und Nägel —, wird den verdächtigen Stellen am Kranken entnommen und auf einen Objektträger gebracht. Darauf werden einige Tropfen einer „Aufhellungsflüssigkeit" auf die Substanz getropft, ein Deckgläschen aufgelegt und nach einiger Zeit unter dem Mikroskop bei mittelstarker Vergrößerung und starker Abblendung untersucht.

Die Verschiedenheit der nativen Methoden besteht

I. in der Verwendung einer anderen Aufhellungsflüssigkeit,

II. in der verschiedenen Einwirkung der Aufhellungsflüssigkeit auf die zu untersuchende Substanz.

ad I. Unter „Aufhellungsflüssigkeit", „Aufhellungsmedium" versteht man eine Lösung, die den Zweck hat, auf die zu untersuchende Substanz aufhellend zu wirken, ohne die Pilzelemente zu schädigen. Die Lösung erreicht das durch ihre Fähigkeit, Hornsubstanz aufzuquellen und aufzulösen. Dadurch wird der Brechungsindex der Hornsubstanz kleiner als das Brechungsvermögen der Pilzelemente, so daß sich diese aus dem Untersuchungsmaterial herausheben.

Auf die Hornsubstanz quellend und auflösend wirken in geringem Maße Säuren, dagegen stark Alkalien und Hydrosulfide.

Diese drei Substanzen werden auch, wie die Literatur zeigt, zur Aufhellung verwendet.

1. Säuren.
   a) Reine Ameisensäure,
   b) Chlorallaktophenol,
   c) Salicylchlorallaktophenol.
2. Alkalien.
   a) Kalilauge,
   b) Pottaschelösungen,
   c) Ammoniakalische Lösungen,
   d) Antiformin.
3. Hydrosulfid.
   Ein von Cornbleet angegebenes Reagens.

ad II. Die verschiedene Einwirkung der Aufhellungsflüssigkeit besteht in

1. längerer oder kürzerer Einwirkungsdauer,
2. in der Benutzung von Hitze zur Verstärkung der Einwirkung,
3. in der Anwendung von Druck auf das Deckglas zur Verteilung der zerfallenden Hornsubstanz und damit gleichmäßigeren Einwirkung des Aufhellungsmediums.

Das wesentlich Verschiedene an den einzelnen Methoden ist das Aufhellungsmedium. Die Verschiedenheit der Einwirkung spielt eine untergeordnete Rolle. Deshalb ordnete ich die Angaben des Schrifttums nach den verwendeten Aufhellungsflüssigkeiten und erwähnte nebenher die Unterschiede in der Anwendung.

1. Säuren.
   a) Reine Ameisensäure.

Dieses Medium zur Aufhellung wird zuerst von Sabouraud erwähnt. Die Ameisensäure wird außerdem von P. Unna, Chajes und Darier angegeben. Darier betont, daß Ameisensäure eine gewisse — also nicht geringe — Zeit brauche, wenn sie in der Kälte angewendet wird, bis die Schuppen aufgehellt sind. Unna spricht ihr das Horngewebe zerstörende Eigenschaften zu, besonders bei Anwendung der schnellen Methode mit Erhitzen.

   b) und c) Chorallaktophenol und Salicylchlorallaktophenol.

Erst vor kurzer Zeit wieder sind diese Medien lobend von S. Milochevitch erwähnt worden. Beide Methoden sind von Amann zuerst angegeben. Die Zusammensetzung des Chlorallaktophenols ist:

Chloral. hydrat. crist.	20,0
Acid. carbol. crist.	10,0
Acid. lactic. pur.	10,0

Die des Salicylchlorallaktophenols:

Chloral. hydrat. crist.	40,0
Acid. carbol. crist.	40,0
Acid. lactic. pur.	20,0
Natr. salicyl.	10,0

Das Salicylchlorallaktophenol soll beim Wunsch nach schnellerer Aufhellung von dicken Schuppen benutzt werden. Milochevitch gibt über die Behandlung der Präparate an:

Auf den Objektträger und das Deckglas wird je ein Tropfen Chlorallaktophenol gebracht, das Untersuchungsmaterial in die Tropfen getan und die Tropfen durch Heranschieben des Deckgläschens an den Tropfen auf dem Objektträger vereinigt. Darauf wird erwärmt, bis sich Luftbläschen zeigen, womit das Eindringen der Flüssigkeit in das Material erleichtert wird. Die Vorteile der Methode seien folgende: Sie sei schnell und denkbar einfach, helle das Material besser als Kalilauge auf und schließlich sei das Präparat sehr lange haltbar. Die feinsten Elemente seien gut aufgehellt und gut sichtbar. Die Sporen der Pilze könnten nie mit anderen Elementen verwechselt werden. Im Chlorallaktophenol entstünden keinerlei Kunstprodukte, die den Untersucher irreführen könnten.

Ich habe es für nötig erachtet, diese Methode ausführlich zu beschreiben, da ich zu ganz anderen Ergebnissen als Milochevitch gekommen bin.

Erwähnt wird das Amann'sche Reagens übrigens auch von Darier und Baeza.

2. Alkalien.

a) Kalilauge.

Die verdünnte Kalilauge ist dasjenige Aufhellungsmittel, das am häufigsten im Schrifttum angegeben wird. Es werden Lösungen zwischen 5 % und 40 % empfohlen, und zwar entweder eine bestimmte Prozentzahl oder ein ganzer Konzentrationsbereich.

Ich fand als erste Angabe die von Kaposi. Es ist eine Kalilösung angegeben, deren Konzentration nicht erwähnt ist. In einer späteren Ausgabe seines Werkes führt Kaposi bereits neben der Kalilauge Ammoniak an. Offen lassen die Konzentration auch Jesionek, Frieboes und Mayr. Das vollkommene Ausreichen der Kalilauge für den Praktiker betont Karrenberg.

In der Literatur, in der auch der Prozentgehalt der Kalilösung angegeben wird, kann man zwei große Gruppen trennen, nämlich solche, die mit geringer Konzentration und langer Einwirkungsdauer rechnen, und schließlich andere, die auf hohe Konzentrationen Wert legen.

Ich rechne zu der Gruppe mit niedriger Prozentangabe die Angaben von 5 % bis 20 % einschließlich, zur zweiten Gruppe die Angaben von 30 % und 40 %.

Über die Anwendungsweise der Kalilauge, sei sie höherer oder geringerer Konzentration, bestehen ebenfalls sehr verschiedene Vorschriften, so über Präparieren mit oder ohne Erhitzen über der Flamme.

Bei Berücksichtigung der Konzentration und der Erhitzung lassen sich vier Gruppen trennen, die mir für die Nachprüfung durch Versuche wichtig waren:

1) geringe Konzentration ohne Erhitzen,
2) geringe Konzentration mit Erhitzen,
3) hohe Konzentration ohne Erhitzen,
4) hohe Konzentration mit Erhitzen.

ad 1) Lang hat mit 5—10 % die niedrigste Angabe über Konzentration gemacht. Zehnprozentige Kalilauge wollen verwendet sehen Memmersheimer, Lesser, Joseph und Jadassohn. Letzterer schlägt jedoch schon für die Bearbeitung von Haaren und Nägeln das Erhitzen vor. Rohrbach verwendet 15%ige Kalilauge, ebenso Unna, der darauf hinweist, daß bei dieser Methode bis zu einer Stunde zum Erreichen brauchbarer Resultate gewartet werden muß. In krassem Widerspruch zu dieser Angabe steht Kromayer mit der Behauptung, daß fünf Minuten Einwirkungsdauer vollkommen genügen, wenn nach fünf Minuten breit auf das Deckglas gedrückt wird.

ad 2) Herxheimer und Hofmann erklären, daß das Verfahren mit 10%iger Kalilauge und kurzem Erwärmen über der Flamme nur geringen Zeitaufwand erfordere und gute Resultate zeitige. Mulzer will das Präparat in 10—15 prozentige Kalilauge gebracht wissen, und es soll bis zur Dampfentwicklung über der Flamme langsam erhitzt werden. Jessner urteilt über die gleiche Behandlung mit 10 % iger Kalilauge, das Präparat erfordere zur Aufhellung zuweilen

fünfzehn bis dreißig Minuten. Immerhin sei es eindeutig. Plaut gibt neben seiner Antiforminmethode auch das Verfahren mit offizineller Kalilauge und Erhitzen an. Ich zitiere Plaut etwas ausführlicher, weil seine Angaben wertvolle Hinweise für die Untersuchung auch mit anderen Methoden sind.

Erhitzen solle man so lange, bis im Präparat die erste kurze Bewegung (Stoßen) beginne. Man solle auf kleine Hornreste in den Schuppen achten, die mit schwacher Vergrößerung, wenn sie stark von Pilzen befallen sind, schwarz erscheinen, oder dunkler als die gesunden, wenn sie nur wenig durchwuchert sind. Wenn sich keine Pilzelemente in den Haaren und Haarstümpfen fänden, sollten die Ränder der Schuppen einer genauen Musterung unterzogen werden. Dort fände man am besten die feinen Mycelien.

ad 3) Als Verfechter starker Konzentrationen führe ich Krösig an, der mit einer Konzentration von 40 Prozent die höchste Angabe macht. Joseph gibt 30%ige Kalilauge an.

ad 4) 1910 ist es Dreuw, der zur Haaruntersuchung 30%ige Kalilauge und Erhitzen angibt, später auch Chajes. Von Bruhns und Alexander wird die Untersuchung mit 30prozentiger Kalilauge als die Standardmethode des nativen Pilznachweises besprochen und ausführlich geschildert. Es soll hiernach so verfahren werden, daß das Präparat unbedingt erst einmal eine halbe Stunde liegen gelassen werden muß, darauf wird es vorsichtig erwärmt und noch einmal dreißig Minuten liegen gelassen! Diese Methode wird als für den erstmaligen Pilznachweis ausreichend empfohlen.

Als eine Variante des Kalilaugen-Präparates nenne ich die Aufhellung mit Kalilaugen-Glycerin.

b) Pottasche.

Die Angaben über Pottasche als Aufhellungsmittel sind nicht entfernt so zahlreich wie die über Kalilauge. Wir finden die Pottasche vor allem im englischen und französischen Schrifttum bevorzugt.

Schon 1879 wird die Pottasche von Morris zur Aufhellung empfohlen und bezeichnenderweise eine Einwirkungsdauer von 24 Stunden gefordert. Auf die Eigentümlichkeit der Engländer, geringprozentige Pottaschelösungnen (etwa 7%ige) zu verwenden, weist Sabouraud hin. Von Sabouraud selbst wird 30%ige bei der Beschreibung der Herstellung von Dauerpräparaten erwähnt. Eine 40%ige Lösung von Pottasche, der etwas Alkohol zugesetzt werden soll, gibt Darier an. Sézary verwendet 40%ige Pottasche und erhitzt.

c) Ammoniakalische Lösungen.

stellten Bedingungen am meisten entspricht. Daher erachte ich folgende native Pilzuntersuchungsmethode als die zweckmäßigste:

Epidermisschuppen, kranke Haare oder Nagelfeilstaub in möglichst großer Menge werden auf einen sauberen Objektträger gebracht und einige Tropfen einer 25%igen Antiforminlösung daraufgetropft. Ein Deckglas wird von einer Seite an die Tropfen herangeführt, bis es die Tropfen berührt, und dann mittels einer Nadel oder eines Spatels langsam auf die zu untersuchende Substanz gelegt. Nach etwa zehn Minuten übt man einen leichten Druck auf das Deckglas mit dem Daumennagel oder einer Nadel aus und untersucht bei starker Abblendung und vorerst mäßiger Vergrößerung. Verdächtige Stellen des Präparates werden darauf mit stärkerer Vergrößerung (etwa 200 bis 300 fache Vergrößerung) genauer geprüft.

Zusammenfassung.

Es werden Untersuchungen zur Feststellung der geeignetsten Methode des nativen Pilznachweises bei Dermatomykosen beschrieben und als das beste Verfahren das von Plaut angegebene Verfahren mit 25%igem Antiformin als Aufhellungsflüssigkeit empfohlen.

Literaturnachweis.

Alkievitch, J. und Gorny, W.: Über eine vereinfachte Färbemethode zur Darsstellung von Fadenpilzen in Schuppen und Haaren in der ambulanten Praxis. Derm. Wochenschr. 1935, 101, S. 1034.
Amann, J.: Zeitschr. f. wiss. Mikr. 1896, 13, S. 18.
Ders.: Zeitschr. f. wiss. Mikr. 1899, 16, S. 38.
Baeza, M.: Revista Española de Biologia, 1934, T. 3, S. 146.
Bruhns, C. und Alexander, A.: in Jadassohns Handbuch der Haut und Geschlechtskrankheiten, Bd. 11, S. 84.
Busson, B.: im Handb. der path. Mikroorg. von Kolle, Kraus, Ulenhuth, 1921, Bd. 9, S. 696.
Chajes, B.: Die Pilzerkrankungen der menschlichen Haut. Med. Klin. 1918, 13, S. 313.
Cornbleet, Th.: Ein Reagens zur Darstellung von Pilzen in Schuppen und Haaren. J. amer. med. Assos. 95 S. 1743. Ref. Zentrbl. f. Haut und Geschlechtskr. 38, S. 84.
Darier, J.: Précis de Dermatologie 1938, S. 556, 726, 740.
Dreuw: Montschr. f. prakt. Derm. 1910, 51, Nr. 3.
Fox, T.: Skin Diseases, 1873, S. 436.
Frieboes, W.: Lehrb. der Haut und Geschlechtskr. 1930, S. 276.
Gardiner, F.: Handbook of Skin Diseases, 1924, S. 81.
Hammerschmidt, J.: Archiv für Hygiene, 1922, S. 7.
Herxheimer, K.: Ein Beitrag zur Darstellung der pathogenen Hautpilze. Derm. Zeitschr. 1915, 22, S. 633.
Herxheimer, K. und Hofmann, E.: Die Hautkrankheiten, 1929, S. 235.
Jadassohn, J.: im Handb. der prakt. Med. von Ebstein und Schwalbe, 1901, Bd. 3, T. 2, S. 485.
Joseph, M.: Lehrb. der Haut und Geschlechtskr. 1910, T. 1, S. 358..
Kaposi, M.: Pathol. u. Therapie der Hautkr. 1883, S. 754, u. 1899, S. 973.
Karrenberg, C. L.: Derm. Wochenschr. 1928, 87, S. 1715.
Krantz, W.: Einführung in die Dematologie, 1933, S. 319.
Kromayer, E.: Repetitorium der Haut und Gschlechtskr. 1920, S. 94.
Krösing, R.: Arch. f. Derm. und Syphil. 1895.
Lang, E.: Lehrbuch der Hautkrankheiten, 1902, S. 156.
Langeron, M.: Précis de Mikroskopie, 1934, S. 1134.
Lesser, E.: Lehrb. der Haut und Geschlechtskr. 1914, S. 261.
Mayr, I. K.: Kurzes Lehrb. d. Haut und Geschlechtskr. 1929, S. 113.
Memmersheimer, A. M.: Kurzer Leitf. der Haut und Geschlechtskr. 1930, S. 9.
Milochevitch, S.: Derm. Wochenschr. 1936, 102, 11, S. 320.
Morris, M.: Skin Diseases, 1879, S. 272.
Mulzer, P.: Kompendium der Haut u. Geschlechtskr. 1923, S. 165.
Plaut, H. C.: im Handb. der mikrobiol. Techn. von Kraus und Uhlenhuth, 1924, Bd. 3, S. 1817.
Rohrbach, R.: Die Hautkrankheiten, 1935, S. 127.
Sabouraud, R.: Maladies du cuir chevelu, 3, les Teignes, 1910.
Sézary, A.: Dermatologie, 1932, S. 135.
Strickler, A.: Diseases of the Skin and Syphilis, 1927, S. 457.
Unna, P. jun.: Derm. Wochenschr. 1919, 1, S. 314.

1)	Acid. salicyl.	1,0
	Glycer.	15,0
2)	Acid. salicyl.	1,0
	Olei Rizin.	1,0
	Olei Olivar.	10,0

Der Zweck meiner Arbeit war, die beste Methode unter den angegebenen Verfahren herauszufinden. Von einer guten Methode zum nativen Pilznachwes ist folgendes zu fordern:

A) Sie muß möglichst schnell Ergebnisse zeitigen. Eine Untersuchungsmethode, deren Ausführung lange Zeit beansprucht, ist für praktischen Arzt und Kliniker gleich ungeeignet.

B) Sie muß eindeutige, wirklich beweisende Tatsachen liefern.

C) Das Ergebnis der Untersuchung muß eine gewisse Zeit unverändert bleiben. Jeder Arzt muß mit der Möglichkeit rechnen, ein angefertigtes Präparat erst nach einigen Stunden betrachten zu können.

D) Die Methode muß leicht ausführbar sein. Je einfacher ein Verfahren ist, desto lieber wird es angewendet.

E) Sie muß billig sein. Gerade in unserer Zeit ist der Forderung nach einer billigen Methode besondere Aufmerksamkeit zu widmen.

Als beste Methode wollte ich diejenige werten, die diesen Forderungen am meisten entspricht. Dazu stellte ich mehrere Untersuchungsreihen an. Voraussetzung für die Auswertung der Beobachtungsergebnisse war die Gleichmäßigkeit der Untersuchungen. Um sie zu gewährleisten, beachtete ich folgende Forderungen:

1) Ich mußte jede Methode beherrschen.

Diese Bedingung suchte ich dadurch zu erfüllen, daß ich jede Methode fünfzehn bis zwanzig mal ausführte, daneben aber noch an negativem Material erprobte.

2) Ich mußte bei allen Methoden möglichst gleiche Untersuchungsverhältnisse schaffen.

Zur Erfüllung dieser Bedingung kam mir zu statten, daß das Untersuchungmaterial, das mir aus der Poliklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten der Universität Göttingen überlassen wurde, bei den meisten Fällen so groß war, daß ich fast alle Methoden mit gleichem oder doch ähnlichem Material ausprobieren konnte. Ferner machte ich meine Beobachtungen bei allen Methoden unter den gleichen Beleuchtungsverhältnissen, nämlich entweder bei allen mit künstlichem Licht, oder bei allen mit zerstreutem Tageslicht.

3) Ich hatte die Untersuchungen mit allen Methoden möglichst gleichzeitig anzustellen.

Da ich jedes Präparat wenigstens in den ersten fünfzehn Minuten dauernd im Auge behalten mußte, um gerade in dieser kritischen Zeit jede Veränderung feststellen zu können, konnte ich die einzelnen Präparate in einem Abstand von mindestens 15 Minuten ansetzen, was mir immer noch erlaubte, auch in Einzelheiten Vergleiche anzustellen.

Meine Untersuchungen baute ich folgendermaßen auf:

Zuerst ermittelte ich die Schnelligkeit der einzelnen Methoden, darauf prüfte ich die besten Methoden auf ihre Sicherheit, auf das Unverändertbleiben, auf die Leichtigkeit und Einfachheit der Ausführung und auf ihre Billigkeit.

Der Grund, warum ich die Untersuchungen betreffs der Schnelligkeit einer Methode an die Spitze aller Untersuchungen stellte, war die auf das rein Praktische gehende Überlegung, daß eine langsam wirkende Methode, mag sie auch noch so gute Ergebnisse nach einiger Zeit zu Tage fördern, nicht brauchbar ist, so daß sich jede weitere Erörterung dieser Methode dann erübrigt.

Als Kriterium der Schnelligkeit einer Methode wertete ich die Zeit, die vom ersten Einwirken der Aufhellungsflüssigkeit auf das Untersuchungsmaterial bis zu dem Augenblick, in dem an einem positiven Ausfall der Untersuchung nicht zu zweifeln war, verging. Ich bin mir der Schwierigkeit bewußt, diesen Zeitpunkt genau angeben zu wollen; denn wie oft kann man die Pilzfäden sozusagen ahnen, ohne sich schon endgültig zu entscheiden. Da die Einzelergebnisse bei denselben Methoden — etwa infolge verschiedener Dicke der Schuppen — etwas voneinander verschieden waren, berechnete ich eine Durchschnittszeit. Zur Ermittlung des Zeitpunktes, an dem das Präparat als positiv anzusprechen war, beobachtete ich jedes Präparat in den ersten zehn bis fünfzehn Minuten ohne Unterbrechung, dann — vom Zeitpunkt der Anfertigung des Präparates an gerechnet — nach 20 — 25 — 30 — 40 — 50 — 60 — 80 — 100 — 120 — 180 Minuten und schließlich nach fünf bis zwölf Stunden. Von der dritten Stunde ab brachte ich das Präparat in die feuchte Kammer, um eine zu starke Verdunstung mit Kristallbildung zu vermeiden.

Bei den Untersuchungen nach der beschriebenen Anordnung ergaben sich mir folgende Resultate:

1. Ameisensäure ohne Erhitzen.

Ich fand Dariers Angabe bestätigt, daß die Ameisensäure zur Erzielung verwertbarer Ergebnisse eine gewisse Zeit brauche. Diese Zeit liegt nach meinen Berechnungen bei ungefär 45 Minuten.

2. Ameisensäure mit Erhitzen.

Das Erhitzen erzielte eine Verkürzung der Aufhellungszeit um ein Beträchtliches; es wurde nämlich das Durchschnittsergebnis um fünfzehn Minuten auf 30 Minuten verbessert. Beim Druck auf das Deckglas nach etwa fünfzehn Minuten kam es zum teilweisen Auseinanderfallen der Schuppen. Hier und da sah man dann schon ein paar Sporen, selten Mycelien im Brei umherschwimmen; die Zellgrenzen leuchteten recht hell auf und verwirrten teilweise das Bild.

3. Chlorallaktophenol.

Schon oben habe ich darauf hingewiesen, daß meine Ergebnisse mit denen Milochevitch's und der anderen diese Methode empfehlenden Autoren nicht übereinstimmen. Allerdings konnte auch ich feststellen, daß der Zellzusammenhang im Chlorallaktophenolpräparat gegenüber den meisten anderen Methoden trotz des Erhitzens und auch, wenn man auf das Deckglas stark drückte, gut erhalten blieb. Die Schuppen waren auch bald so stark aufgehellt, daß man sie, wenn sie klein waren und wenn das Medium lange eingewirkt hatte, mit bloßem Auge kaum noch sehen konnte, aber die Pilze heben sich sehr schlecht ab. Bei einigen Fällen hatte ich gar Stunden zu warten, ehe ich mit dem Resultat, das mit Antiformin und Kalilauge schon lange erreicht war, auch nur annähernd zufrieden sein konnte. Aber nicht nur diese Tatsache des späten Erkennens — ich errechnete im Durchschnitt etwa 50 Minuten —, auch andere Mängel machten mir das Chlorallaktophenol nicht empfehlenswert. Das sind die vielen Verwechslungsmöglichkeiten, die ich trotz der Angaben von Milochevitch, der das Fehlen von Verwechslungsmöglichkeiten als einen besonderen Vorzug des Chlorallaktophenolpräparates hervorhebt, bestätigen muß. Bei wenig Medien fand ich so große Ähnlichkeit der Mycelien mit Zellgrenzen wie beim Chlorallaktophenol. Trotz der Stimmen, die im Schrifttum für eine Verwendung dieses Mediums eintreten, muß ich schon aus Zeitgründen diese Methode ablehnen.

4. Salicylchlorallaktophenol.

Mit dem Salicylchlorallaktophenol erzielte ich keine wesentlich besseren Ergebnisse, wenn auch die Aufhellung bis zum vollkommenen Durchscheinen der Hornsubstanz noch schneller erreicht wurde als mit dem einfachen Chlorallaktophenol. Ich erkläre mir das Versagen beider Amann'scher Methoden mit dem zu starken Leuchten der gesamten Elemente, der Schuppen, der Haare u. s. w:

5. 15%ige Kalilauge in der Kälte.

Wie aus der Literatur bekannt ist, wird mit diesem Medium oft erst nach einer Stunde ein brauchbares Ergebnis erreicht. Dieser Beurteilung kann ich voll und ganz zustimmen. Wenn auch einige Prä-

parate schon weit vor dieser Zeit annehmbar waren, so wurde doch das Durchschnittsergebnis durch die lange Aufhellungszeit bei etwas dickeren Schuppen hinaufgeschraubt. Bei Prüfung dieser Methode traten mir zum erstenmal die Verwechslungsmöglichkeiten, die durch das Entstehen von Kristallen zur Vorsicht zwingen, vor Augen. Je länger das Kalilaugenpräparat, ohne in die feuchte Kammer gebracht zu werden, stehen blieb, desto mehr Neigung bestand zur Kristallbildung. — Schon die durchschnittliche Zeit von 45 Minuten zeigt, daß dieses Medum unbrauchbar ist.

6. 15%ige Kalilauge mit Erhitzen.

Durch Erwärmung, besonders aber durch leichten Druck auf das Deckglas konnten die Ergebnisse mit der geringprozentigen Kalilauge auf die Durchschnittszeit von einer halben Stunde herabgeschraubt werden.

7. 32%ige Kalilauge in der Kälte.

Die starke Konzentration bewirkte eine auch in der Kälte gute Aufhellung. Die Durchschnittszeit betrug 25 Minuten. Druck auf das Deckglas ist sehr vorteilhaft.

8. 32%ige Kalilauge mit Erhitzen.

Bei dieser Methode kam ich zum ersten Mal auf Werte von 10 bis 15 Minuten Aufhellungszeit herab. Es ist erstaunlich, wie schon nach kurzer Zeit die Hornsubstanz so gut aufgehellt ist, daß Sporen und Mycelien in voller Deutlichkeit zu erkennen sind. Die Mycelien durchsetzen wie ein Spinnennetz die nur noch lose aneinander haftenden Zellenmassen, Sporen schwimmen nach leichtem Druck auf das Deckglas im Gesichtsfeld umher und leuchten mit grünlichem Schimmer bei Tageslicht, mit intensiver Helligkeit bei künstlichem Licht auf. Dreht man an der Mikrometerschraube, so kann man genau die doppelte Konturierung erkennen; die Septen buchten sich dann wie glänzende Zahnkämme in das dunkle Mycelienband vor, das im weiteren Verlaufe hell aufleuchten kann, wenn es sich in eine höher oder tiefer gelegene Hornschicht fortsetzt. Durch dieses Verhalten ist uns ein primitives Hilfsmittel zur Erkennung der Struktur des Myceliengeflechts gegeben. Ein leichter Druck auf das Deckglas nach etwa fünf Minuten ausgeführt, bewährte sich mir auf das beste. Die Erwärmung geschah sofort, nachdem die Kalilauge zu der zu untersuchenden Substanz gebracht und das Deckglas aufgelegt war.

9. 7%ige Pottaschelösung.

Die 7%ige Pottasche bewirkte keine merkliche Aufhellung des Präparates. Positive Pilzbefunde konnten mit ihr frühestens nach

einigen Stunden, meistens erst nach einem Tage erreicht werden. Oft war das Präparat bei dieser Methode negativ, während gleiches Material, mit anderen Aufhellungsmitteln behandelt, sich als positiv erwies. Reines Wasser, mit dem ich Vergleichsversuche anstellte, ergab ganz ähnliche Resultate.

10. 30%ige Pottaschelösung.

Selbst 30%ige Pottasche mit Erwärmen vermochte die Ergebnisse nur unwesentlich zu verbessern. Sie sind etwa denen 15%iger Kalilauge ohne Erwärmen gleichzusetzen, also Durchschnittszeit etwa 45 Minuten.

11. 25%ige Antiforminlösung.

Die Untersuchungsergebnisse bei dieser Aufhellungsflüssigkeit betreffs der Zeit verhalten sich wie die Ergebnisse bei 30%iger Kalilauge mit Erhitzen, vielleicht sogar noch etwas günstiger. Ich teile ein typisches Untersuchungsprotokoll mit:

9 Uhr 30 min. Beginn der Untersuchung.

9 Uhr 35 min. Einzelne kurze, Mycel-verdächtige Gebilde sind an den Rändern einzelner Schuppen zu sehen. Kräftiger Druck mit dem Nagelrücken auf das Deckglas.

9 Uhr 43 min. Von den vorhin verdächtigen Stellen aus lassen sich doppelt konturierte, nicht septierte Fäden in die Substanz der Schuppen hinein verfolgen. An einzelnen Stellen im Gesichtsfeld schwimmen trauben-artig aneinanderliegende, kubische, grünlich schimmernde Sporenhaufen umher. Kleine Körperhaarstümpfe sind noch deutlich zu erkennen, die Epidermiszellen sind gequollen und ihr Zusammenhang gelockert.

10 Uhr 10 min. Von den Schuppen ist nur noch ein körniger Brei vorhanden, in dem sich jetzt auch deutlich septierte Mycelien neben den unseptierten erkennen lassen. Die Sporen heben sich infolge grünlichen Reflexes auch von dem körnigen Brei ab.

10 Uhr 30 min. Es ist keine Veränderung im Präparat zu erkennen. Druck auf das Deckglas bewirkt breiartiges Auseinanderfließen der vollkommen hellen, hauchig gelb getönten Masse, in der sich Sporen und Mycelien unverkennbar und unverändert darstellen.

11 Uhr 30 min. Präparat unverändert.

12 Uhr 30 min. Präparat unverändert.

Einbringen in die feuchte Kammer.

Nach 24 und 48 Stunden ist immer noch keine Veränderung des Präparates festzustellen. Vernichten des Präparates.

Dieses Untersuchungsprotokoll ist so typisch, daß ich es ohne jede weitere Erörterung als Schilderung der Wirkung der Antiformin-methode eingefügt habe. Geringe Abweichungen betreffs der Zeit kamen vor, jedoch deckt sich der Durchschnitt mit den im Protokoll angegebenen Werten.

12. Cornbleet'sches Reagens.

Meine Untersuchungsergebnisse lauten für diese Methode nicht ungünstig. Nach etwa 20 bis 25 Minuten sind die Pilz-Fäden und Sporen bereits gut zu sehen; die umgebende Hornsubstanz löst sich auf, die Zellen fallen etwa nach fünfzig Minuten auseinander, wenn man einen leichten Druck auf das Deckglas ausübt. Die mit diesem Medium hergestellten Präparate sind sehr empfindlich. An jedem Fremdkörper schlagen sich gerne Kristalle oder sogar der Schwefel nieder. Deshalb müssen die Präparate bald in eine feuchte Kammer gebracht werden. In einigen Fällen wurde das Präparat nach mehrstündigem Liegen grünlich getönt. Ferner ist Vorsicht beim Entnehmen der Flüssigkeit aus der Flasche geboten, da sich am Boden des Glases immer etwas ausgefallener Schwefel absetzt.

13. Salizylsäure ohne Erhitzen und

14. Salizylsäure mit Erhitzen.

Die mit diesem Medium erhaltenen Resultate decken sich fast vollständig mit den Ergebnissen des Chlorallaktophenols und Salizylchlorallaktophenols.

Diese Untersuchungsreihe hat, um kurz zusammenzufassen folgende Resultate gezeitigt:

Methode Nr.:	erforderte Zeit:
1.	45 Minuten,
2.	30 „ ,
3.	50 „ ,
4.	45 „ ,
5.	45 „ ,
6.	30 „ ,
7.	25 „ ,
8.	12 „ ,
9.	über 24 Stunden,
10.	45 Minuten,
11.	12 „ ,
12.	23 „ ,
13.	50 „ ,
14.	45 „

einigen Stunden, meistens erst nach einem Tage erreicht werden. Oft war das Präparat bei dieser Methode negativ, während gleiches Material, mit anderen Aufhellungsmitteln behandelt, sich als positiv erwies. Reines Wasser, mit dem ich Vergleichsversuche anstellte, ergab ganz ähnliche Resultate.

10. 30%ige Pottaschelösung.

Selbst 30%ige Pottasche mit Erwärmen vermochte die Ergebnisse nur unwesentlich zu verbessern. Sie sind etwa denen 15%iger Kalilauge ohne Erwärmen gleichzusetzen, also Durchschnittszeit etwa 45 Minuten.

11. 25%ige Antiforminlösung.

Die Untersuchungsergebnisse bei dieser Aufhellungsflüssigkeit betreffs der Zeit verhalten sich wie die Ergebnisse bei 30%iger Kalilauge mit Erhitzen, vielleicht sogar noch etwas günstiger. Ich teile ein typisches Untersuchungsprotokoll mit:

9 Uhr 30 min. Beginn der Untersuchung.

9 Uhr 35 min. Einzelne kurze, Mycel-verdächtige Gebilde sind an den Rändern einzelner Schuppen zu sehen. Kräftiger Druck mit dem Nagelrücken auf das Deckglas.

9 Uhr 43 min. Von den vorhin verdächtigen Stellen aus lassen sich doppelt konturierte, nicht septierte Fäden in die Substanz der Schuppen hinein verfolgen. An einzelnen Stellen im Gesichtsfeld schwimmen trauben-artig aneinanderliegende, kubische, grünlich schimmernde Sporenhaufen umher. Kleine Körperhaarstümpfe sind noch deutlich zu erkennen, die Epidermiszellen sind gequollen und ihr Zusammenhang gelockert.

10 Uhr 10 min. Von den Schuppen ist nur noch ein körniger Brei vorhanden, in dem sich jetzt auch deutlich septierte Mycelien neben den unseptierten erkennen lassen. Die Sporen heben sich infolge grünlichen Reflexes auch von dem körnigen Brei ab.

10 Uhr 30 min. Es ist keine Veränderung im Präparat zu erkennen. Druck auf das Deckglas bewirkt breiartiges Auseinanderfließen der vollkommen hellen, hauchig gelb getönten Masse, in der sich Sporen und Mycelien unverkennbar und unverändert darstellen.

11 Uhr 30 min. Präparat unverändert.

12 Uhr 30 min. Präparat unverändert.

Einbringen in die feuchte Kammer.

Nach 24 und 48 Stunden ist immer noch keine Veränderung des Präparates festzustellen. Vernichten des Präparates.

Dieses Untersuchungsprotokoll ist so typisch, daß ich es ohne jede weitere Erörterung als Schilderung der Wirkung der Antiformin-methode eingefügt habe. Geringe Abweichungen betreffs der Zeit kamen vor, jedoch deckt sich der Durchschnitt mit den im Protokoll angegebenen Werten.

12. Cornbleet'sches Reagens.

Meine Untersuchungsergebnisse lauten für diese Methode nicht ungünstig. Nach etwa 20 bis 25 Minuten sind die Pilz-Fäden und Sporen bereits gut zu sehen; die umgebende Hornsubstanz löst sich auf, die Zellen fallen etwa nach fünfzig Minuten auseinander, wenn man einen leichten Druck auf das Deckglas ausübt. Die mit diesem Medium hergestellten Präparate sind sehr empfindlich. An jedem Fremdkörper schlagen sich gerne Kristalle oder sogar der Schwefel nieder. Deshalb müssen die Präparate bald in eine feuchte Kammer gebracht werden. In einigen Fällen wurde das Präparat nach mehrstündigem Liegen grünlich getönt. Ferner ist Vorsicht beim Entnehmen der Flüssigkeit aus der Flasche geboten, da sich am Boden des Glases immer etwas ausgefallener Schwefel absetzt.

13. Salizylsäure ohne Erhitzen und

14. Salizylsäure mit Erhitzen.

Die mit diesem Medium erhaltenen Resultate decken sich fast vollständig mit den Ergebnissen des Chlorallaktophenols und Salizylchlorallaktophenols.

Diese Untersuchungsreihe hat, um kurz zusammenzufassen folgende Resultate gezeitigt:

Methode Nr.:	erforderte Zeit:
1.	45 Minuten,
2.	30 „ ,
3.	50 „ ,
4.	45 „ ,
5.	45 „ ,
6.	30 „ ,
7.	25 „ ,
8.	12 „ ,
9.	über 24 Stunden,
10.	45 Minuten,
11.	12 „ ,
12.	23 „ ,
13.	50 „ ,
14.	45 „ .

In Bezug auf die Schnelligkeit der Methoden ergibt sich nach diesen Untersuchungen: Am geeignetsten sind das 25%ige Antiformin und die 32%ige Kalilauge mit Erhitzen. Danach kommen eventuell noch in Betracht die 32%ige Kalilauge ohne Erhitzen und das Cornbleetsche Reagens.

Im Anschluß an diese Untersuchungen war die Frage nach der größeren Sicherheit eines Verfahrens unter denjenigen zu entscheiden, die sich in Bezug auf Schnelligkeit als geeignet erwiesen hatten.

Die Sicherheit einer Methode ist um so größer, je eindeutiger die Befunde, je geringer die Verwechslungsmöglichkeiten mit Pilzelementähnlichen Bildern sind.

Pilzelemente können mit folgenden Gebilden verwechselt werden:

1. mit Haarbestandteilen,
2. „ Zellgrenzen,
3. „ elastischen Fasern,
4. „ Fettropfen,
5. „ Luftblasen,
6. „ Kristallen.

Ich bediente mich zur Untersuchung dieser Elemente von Pilzbestandteilen folgender Tatsachen:

Mycelien können mittels ihrer doppelten Konturierung von Haarbestandteilen unterschieden werden. Verwechslungen der Mycelien mit Zellgrenzen lassen sich vermeiden, wenn man sich vor Augen hält, daß die Mycelien über die Zellgrenzen hinauslaufen und oft septiert sind. Elastische Fasern kommen nur in nekrotischem Gewebe vor, eine Verwechslung mit ihnen ist bei Beachtung dieser Möglichkeit vermeidbar; Fettropfen lassen sich durch Vorbehandlung des Präparates mit Äther entfernen. Das Entstehen von Luftbläschen kann man durch richtige Anfertigung des Präparates vermeiden. Sie sind beim Bewegen der Mikrometerschraube vermöge ihres gegenüber den Sporen verschiedenen Lichtbrechungsvermögens von diesen zu trennen. Allein die Verwechslungsmöglichkeit mit Kristallen kann Schwierigkeiten bereiten.

Ich suchte sie folgendermaßen zu beseitigen: Mit jedem Aufhellungsmedium fertigte ich mehrere Präparate ohne Material an und ließ diese so lange liegen, bis sich Kristalle niederschlugen. Die so gewonnenen Bilder konnte ich jederzeit bei Bedarf mit verdächtigen Stellen vergleichen.

Zwischen den beiden in Bezug auf die Schnelligkeit besten Methoden lassen sich, was ihre Sicherheit anbetrifft, keine merklichen Unterschiede feststellen. Sowohl beim Antiformin wie bei der Kali-

laugenlösung besteht Neigung zu Kristallbildung, die jedoch nicht so groß ist, daß sie die Untersuchungen stören könnte. Die Erörterung der Verwechslungsmöglichkeiten bei den anderen Aufhellungsmedien erübrigt sich durch ihre Unbrauchbarkeit in zeitlicher Beziehung.

Die nächsten Untersuchungen galten der Frage, ob die mittels der bis jetzt besten Methoden hergestellten Präparate eine bestimmte Zeit unverändert blieben.

Die von mir bei meinen Versuchen hierzu geforderte Zeit betrug drei bis vier Stunden nach Anrichten des Präparates.

Zur Entscheidung dieser Frage dienten mir

1. die Beobachtung aller positiven Präparate 2, 3 und 4 Stunden nach dem Anrichten,
2. in gleicher Weise durchgeführte Untersuchungen an Reinkulturpräparaten, die mir von der Göttinger Universitätsklinik für Haut und Geschlechtskrankheiten zur Verfügung gestellt wurden.

Das Ergebnis ist Folgendes: Sowohl durch das 25%ige Antiformin als auch durch die 32%ige Kalilauge mit Erwärmen wurden die Pilzelemente in keinem sichtbaren, die Untersuchungen störendem Maße angegriffen und verändert; auch in dieser Beziehung ergab sich kein PRAE für eines der beiden Aufhellungsmedien.

Die Leichtigkeit und Einfachheit der Ausführung der Untersuchungsmethoden blieb als nächstes Kriterium zu beurteilen. Danach ist ein Überlegensein der Antiforminmethode festzustellen. Während nämlich bei der 32%igen Kalilauge zum Erzielen der günstigen Ergebnisse unbedingt Erhitzen notwendig ist, ist das beim Arbeiten mit Antiformin nicht nötig.

Als letzte Frage blieb die Frage nach der Billigkeit der beiden Methoden zu beantworten.

Das Antiformin ist heute nur in Originalflaschen zu 125 g zum Preise von 5,03 RM zu haben. 100 g 25%iges Antiformin würden demnach 1,00 RM kosten.

30%ige Kalilauge kostet in der Menge von 100 g ebenfalls etwa 1,00 RM.

In dieser Beziehung kann man also keiner Methode den Vorzug geben.

In dem von Plaut angegebenen Antiforminverfahren steht uns also ein Aufhellungsmedium und Verfahren zur Verfügung, das allen anderen Methoden überlegen ist, da es den an eine Aufhellungsmethode ge-

stellten Bedingungen am meisten entspricht. Daher erachte ich folgende native Pilzuntersuchungsmethode als die zweckmäßigste:

Epidermisschuppen, kranke Haare oder Nagelfeilstaub in möglichst großer Menge werden auf einen sauberen Objektträger gebracht und einige Tropfen einer 25%igen Antiforminlösung daraufgetropft. Ein Deckglas wird von einer Seite an die Tropfen herangeführt, bis es die Tropfen berührt, und dann mittels einer Nadel oder eines Spatels langsam auf die zu untersuchende Substanz gelegt. Nach etwa zehn Minuten übt man einen leichten Druck auf das Deckglas mit dem Daumennagel oder einer Nadel aus und untersucht bei starker Abblendung und vorerst mäßiger Vergrößerung. Verdächtige Stellen des Präparates werden darauf mit stärkerer Vergrößerung (etwa 200 bis 300 fache Vergrößerung) genauer geprüft.

Zusammenfassung.

Es werden Untersuchungen zur Feststellung der geeignetsten Methode des nativen Pilznachweises bei Dermatomykosen beschrieben und als das beste Verfahren das von Plaut angegebene Verfahren mit 25%igem Antiformin als Aufhellungsflüssigkeit empfohlen.

Literaturnachweis.

Alkievitch, J. und Gorny, W.: Über eine vereinfachte Färbemethode zur Darsstellung von Fadenpilzen in Schuppen und Haaren in der ambulanten Praxis. Derm. Wochenschr. 1935, 101, S. 1034.
Amann, J.: Zeitschr. f. wiss. Mikr. 1896, 13, S. 18.
Ders.: Zeitschr. f. wiss. Mikr. 1899, 16, S. 38.
Baeza, M.: Revista Española de Biologia, 1934, T. 3, S. 146.
Bruhns, C. und Alexander, A.: in Jadassohns Handbuch der Haut und Geschlechtskrankheiten, Bd. 11, S. 84.
Busson, B.: im Handb. der path. Mikroorg. von Kolle, Kraus, Ulenhuth, 1921, Bd. 9, S. 696.
Chajes, B.: Die Pilzerkrankungen der menschlichen Haut. Med. Klin. 1918, 13, S. 313.
Cornbleet, Th.: Ein Reagens zur Darstellung von Pilzen in Schuppen und Haaren. J. amer. med. Assos. 95 S. 1743. Ref. Zentrbl. f. Haut und Geschlechtskr. 38, S. 84.
Darier, J.: Précis de Dermatologie 1938, S. 556, 726, 740.
Dreuw: Montschr. f. prakt. Derm. 1910, 51, Nr. 3.
Fox, T.: Skin Diseases, 1873, S. 436.
Frieboes, W.: Lehrb. der Haut und Geschlechtskr. 1930, S. 276.
Gardiner, F.: Handbook of Skin Diseases, 1924, S. 81.
Hammerschmidt, J.: Archiv für Hygiene, 1922, S. 7.
Herxheimer, K.: Ein Beitrag zur Darstellung der pathogenen Hautpilze. Derm. Zeitschr. 1915, 22, S. 633.
Herxheimer, K. und Hofmann, E.: Die Hautkrankheiten, 1929, S. 235.
Jadassohn, J.: im Handb. der prakt. Med. von Ebstein und Schwalbe, 1901, Bd. 3, T. 2, S. 485.
Joseph, M.: Lehrb. der Haut und Geschlechtskr. 1910, T. 1, S. 358..
Kaposi, M.: Pathol. u. Therapie der Hautkr. 1883, S. 754, u. 1899, S. 973.
Karrenberg, C. L.: Derm. Wochenschr. 1928, 87, S. 1715.
Krantz, W.: Einführung in die Dematologie, 1933, S. 319.
Kromayer, E.: Repetitorium der Haut und Gschlechtskr. 1920, S. 94.
Krösing, R.: Arch. f. Derm. und Syphil. 1895.
Lang, E.: Lehrbuch der Hautkrankheiten, 1902, S. 156.
Langeron, M.: Précis de Mikroskopie, 1934, S. 1134.
Lesser, E.: Lehrb. der Haut und Geschlechtskr. 1914, S. 261.
Mayr, I. K.: Kurzes Lehrb. d. Haut und Geschlechtskr. 1929, S. 113.
Memmersheimer, A. M.: Kurzer Leitf. der Haut und Geschlechtskr. 1930, S. 9.
Milochevitch, S.: Derm. Wochenschr. 1936, 102, 11, S. 320.
Morris, M.: Skin Diseases, 1879, S. 272.
Mulzer, P.: Kompendium der Haut u. Geschlechtskr. 1923, S. 165.
Plaut, H. C.: im Handb. der mikrobiol. Techn. von Kraus und Uhlenhuth, 1924, Bd. 3, S. 1817.
Rohrbach, R.: Die Hautkrankheiten, 1935, S. 127.
Sabouraud, R.: Maladies du cuir chevelu, 3, les Teignes, 1910.
Sézary, A.: Dermatologie, 1932, S. 135.
Strickler, A.: Diseases of the Skin and Syphilis, 1927, S. 457.
Unna, P. jun.: Derm. Wochenschr. 1919, 1, S. 314.

Lebenslauf.

Ich wurde am 11. April 1913 in Wollstein/Posen als Sohn des damaligen kgl. Präparandenlehrers Waldemar Schulz und seiner Ehefrau, geb. Effenberger geboren. Meine jüngste Kindheit verlebte ich in Wollstein, Rogasen/Posen und Glogau. Nach vierjährigem Grundschulbesuch in Glogau und Schneidemühl trat ich im April 1923 in die Sexta des Schneidemühler Gymnasiums ein. Von Untertertia ab besuchte ich das Gymnasium Josephinum in Hildesheim und bestand hier meine Reifeprüfung mit „gut". Ich wählte das Studium der Medizin und besuchte die Universitäten in Breslau, Innsbruck, Bonn und Göttingen. Am 1. 3. 1935 bestand ich in Bonn das Physikum.

Nach Abschluß meines Universitätsstudiums gedenke ich mich im Sommer 1937 zur medizinischen Staatsprüfung zu melden.